AMEA-nın Xəbərləri (biologiya və tibb elmləri), cild 73, №3, səh. 106-112 (2018)

Сравнительный анализ гетерогенности NPHS1 и NPHS2 у детей с нефротическим синдромом Азербайджанской и других популяций

Р.О. Бегляров

Азербайджанский медицинский университет, ул. А.А.Бакиханова, 23, Баку AZ1022, Азербайджан;
E-mail: rbaylarov@mail.ru

Цель работы - определение частоты полиморфизма генов NPHS1 и NPHS2 у детей Азербайджанской национальности с различными вариантами нефротического синдрома, обусловленного хроническим гломерулонефритом и сопоставление полученных результатов с данными других популяций. Обследовано 36 детей с НС, обусловленный ХГН. Средний возраст составил 7,26±2,88 лет. Полиморфизм генов NPHS1 и NPHS2 оценен с помощью амплификации рефрактерной мутационной системы - ПЦР. Для секвенирования использовали BigDye® Terminator V.3.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystems, США). Для сравнения последовательностей с последующим определением их сходства с нуклеотидной цепью NM_004646.1 генов NPHS1 и NPHS2 использована программа Blast Ce NCB1. У обследованных детей доминировал генотип GA гена NPHS1. Генотипы AG и CT гена NPHS2 встречались почти с одинаковой частотой. При конгенитальном и НС с минимальными изменениями превалировал генотип GA, а при стероидрезистентном НС - генотип CT гена нефрина. Генотипы AG и CT гена подоцина встречались с частотой 40,0% и 38,0% соответственно. Проведен сравнительный анализ выявленных мутаций генов с результатами в других популяциях. Это первое исследование идентифицирования мутаций в гене NPHS1 и NPHS2 у азербайджанских пациентов с НС. Полученные результаты расширили известный спектр мутаций у пациентов с НС и внесут свой вклад в лучшее понимание НС в разных этнических группах.

Ключевые слова: *Дети, хронический гломерулонефрит, нефротический синдром, нефрин, подоцин, генотип, полиморфизм, мутация.*

ВВЕДЕНИЕ

В Азербайджане частота встречаемости хронического гломерулонефрита (ХГН) у детей не имеет тенденции к снижению. Дети с диагнозом «хронический гломерулонефрит», которые были госпитализированы в течение 4-х лет в г. Баку и регионах республики, составили 64,1% (Ağayev, 2007; Əhmədov, 2012).

Нередко гломерулонефрит сопровождается нефротическим синдромом (НС), который, как считают, может быть проявлением гломерулонефрита. На долю гломерулонефрита с НС приходится около 20% всех случаев заболевания гломерулонефритом (Cho et al., 2008; Banh et al., 2016). Нефротический синдром является одним из основных в клинических наблюдениях нефрологов. По данным литературы НС встречается с частотой 0,5 на 10000 детского населения (Cho et al., 2008; Banh et al., 2016, Nourbakhsh and Mak, 2017).

Активное развитие генетических исследований в нефрологии привело к пониманию роли генетических мутаций и полиморфизмов, ведущих к возникновению НС у детей. Правильное выяснение причин развития заболевания может кардинально изменить терапию и ведение пациента нефрологом.

Установлено, что большинство случаев врожденного (конгенитального) НС обусловлено мутациями генов NPHS1 и NPHS2. Эти гены обеспечивают синтез белков – нефрин и подоцин, локализованных в подоцитах и непосредственно участвующих в формировании щелевой диафрагмы гломерулярной базальной мембраны (Cho et al., 2008; Banh et al., 2016).

Целью исследования явилось определение частоты полиморфизма генов NPHS1 и NPHS2 у детей азербайджанской национальности с различными вариантами нефротического синдрома, обусловленного хроническим гломерулонефритом и сопоставление полученных результатов с данными других популяций.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 36 детей с НС, обусловленный ХГН. Дети были в возрасте от 5 до 11 лет (средний возраст - 7,26±2,88 лет). Мальчиков было 23 (63,9%), девочек - 13 (36,1%).

Клинические исследования проводились в Азербайджанском Медицинском Университете, молекулярно-генетические исследования выполнены в Генетическом диагностическом центре «AFGEN» (Биологическая медицина, Баку), в медицинском факультете Эгейского Медицинского Университета (Измир, Турция). У родителей и детей было получено информированное согласие на участие в исследовании.

При включении в исследование придерживались следующих критериев: возраст менее 16 лет, морфологически подтвержденный НС. Детей с генетическими синдромами, хромосомными аберрациями, болезнями соединительной ткани, васкулитами в исследование не включали.

Диагноз НС был поставлен всем пациентам на основании симптомокомплекса, характерного для этого заболевания: отеки, протеинурия более 3 г/24 ч, гипоальбуминемия менее 25 г/л, гиперлипидемия. О функциональном состоянии почек судили по результатам динамического обследования пациентов с определением скорости клубочковой фильтрации СКФ), рассчитанной по формуле G.J. Schwartz.

У 25 (69,4%) пациентов наблюдался НС с минимальными изменениями, у 6 (16,7%) - стероидрезистентный НС (СРНС), у 5 (13,9%) детей - конгенитальный (врожденный) НС. В группе детей с минимальными изменениями НС мальчиков было -16, девочек - 9, в группе пациентов со стероидрезистентным НС - 3 и 3 и конгенитальным НС - 4 и 1 соответственно.

Полиморфизм генов NPHS1 и NPHS2 оценен с помощью амплификации рефрактерной мутационной системы - ПЦР. Выделение ДНК из лейкоцитов после взятия из вены 200 µl крови выполняли с помощью набора реагентов DNA Prep 200 DIAtom™. Идентификация аллелей полиморфных маркеров проводилась с использованием ПЦР, дальнейшее расщепление фрагментов ДНК - рестриктазами и электрофоретическим разделением фрагментов ДНК - в 2-3%-ном агарозном геле. Для секвенирования использовали BigDye® Terminator V.3.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystems, США). Реакцию очистки проводили, используя набор для очистки BigDye X Terminator™ Purification Kit. Нуклеотидная цепочка AB13130xl каждого экзона генов NPHS1 и NPHS2 прочитана в системе ПЦР. Полученные результаты были оценены с помощью программы SeqScape v.2.7. Для сравнения последовательностей с последующим определением их сходства с нуклеотидной цепью NM_004646.1 генов NPHS1 и NPHS2 использована программа Blast Ce NCB1.

Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета «Statistica 6.0». Распределение генотипов и аллелей выполнено по закону Харди-Вайнберга.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты полиморфизма гена NPHS1 у пациентов с НС представлено в таблице 1.

Как следует из таблицы 1, у одного пациента (девочки) в экзоне 3 в позиции c.349 выявлена нуклеотидная замена G/A, что привело к гетерогенной мутации и смещению положения аминокислоты.

Согласно результатам исследования, у двух (33,3%) пациенток из 6 детей определялись три мутантные комбинации: 1) c.1320C>T (p.Pro440Pro) в экзоне 11, c.2289C>T (p.Val763Val) в экзоне 17 и c.3230A>G (p.Asn1077Ser) в экзоне 24; 2) c.1223G>A (p.Arg408Gln) в экзоне 10, c.3315G>A (p.Ser1105Ser) в экзоне 26 и c.IVS27+45C>T в интронной области экзона 27. У остальных 4-х пациентов отмечались две гетерозиготные мутантные комбинации. При этом комбинация c.1223G>Aпа (p.Arg408Gln) в экзоне 10 и c.3478C>T (p.Arg1160X) в экзоне 27 встречалась у 2 (33,3%) пациентов, комбинация c.1223G>A (p.Arg408Gln) в экзоне 10 и c.3315G>A (p.Ser1105Ser) в экзоне 26, а также c.349G>A (p.E117K) в экзоне 3 и c.1223G>A (p.Arg408Gln) в экзоне 10 определялись у 1 (16,7%) пациента соответственно.

Анализ частоты встречаемости генотипов у детей с НС показал доминирование генотипа GA (61,5%), CG (15,4%), CT (15,4%) AG (7,7%).

У детей с конгенитальным и минимальными изменениями НС чаще определялась гетерозиготная мутация p.Arg408Gln, а у пациентов с СРНС эта мутация не встречалась. Исследования показали, что при конгенитальном НС и НС с минимальными изменениями превалировал генотип GA, а при СРНС - генотип CT гена нефрина.

Таким образом, у 3-х пациентов определялся полиморфизм в гене нефрин, причем у пациента с конгенитальным НС идентифицировались две мутантные комбинации; у пациентки с минимальными изменениями - две мутантные комбинации в гене NPHS1; у пациентки с СРНС три мутантные комбинации гена NPHS1.

Полиморфные маркеры гена подоцина (NPHS2) были идентифицированы у 30 детей, из которых у 24 (80,0%) пациентов был НС с минимальными изменениями, у 5 (16,7%) - СРНС и у 1 (3,3%) пациента - конгенитальный НС.

В результате исследования полиморфизма гена подоцина (NPHS2) у детей с НС была выявлена высокая частота мутаций в гомозиготном виде (таблица 2).

Как следует из таблицы 2, 5'-концевая нетранслируемая область (5'-UTR) определялась в 10,0% случаев в гетерозиготном виде. Проведенный анализ частоты генотипов гена подоцина выявил встречаемость генотипа A>G в 40,0% случаев, генотипа C>T – в 38,0%, генотипа G>A – в 12,0% и генотипа T>C – в 4,0% случаев.

Распределение полиморфных генотипов у детей с различными видами НС показано в таблице 3. Как видно из таблицы 3, у детей с минимальными изменениями НС не определялись мутации в интронной и незакодированной области, тогда как у детей с СРНС такие мутации имели место.

Таким образом, у детей с НС из азербайджанской популяции чаще встречались генотип GA (61,5%) гена NPHS1 и генотипы AG (40,0%) и CT (38,0%) гена NPHS2. У 3-х пациентов определялся полиморфизм в гене нефрин и подоцин, причем у пациента с конгенитальным НС идентифицировались две мутантные комбинации в гене NPHS1 и четыре мутантные комбинации в гене NPHS2; у пациентки с минимальными изменениями - две мутантные комбинации в гене NPHS1 и в гене NPHS2 соответственно; у пациентки с СРНС три мутантные комбинации гена NPHS1 и три мутантные комбинации в гене NPHS2. У всех трех пациентов, независимо от вида НС, в гене NPHS2 выявлялась гомозиготная мутация c.102A>G (p.Gly34Gly) в экзоне 1 и гетерозиготная мутация c.954C>T (p.Ala318Ala) в экзоне 8.

Таблица 1. Нуклеотидные замены в гене NPHS1, выявленные у детей с НС (n=6)

Экзон	Полиморфизм	Гетерозиготы	Нуклеотиды	Пациенты, n (%)
3	c.349G>A	**G**AG/**A**AG	E117K	1 (16.7)
10	c.1223G>A	C**G**G/C**A**G	p.Arg408Gln	5 (83.3)
11	c.1320C>T	CC**C**/CC**T**	p.Pro440Pro	1 (16.7)
17	c.2289 C>T	GT**C**/GT**T**	p.Val763Val	1 (16.7)
24	c.3230A>G	A**A**T/A**G**T	p.Asn1077Ser	1 (16.7)
26	c.3315G>A	TC**G**/TC**A**	p.Ser1105Ser	2 (33.3)
27	c.3478C>T	**C**AG/TA**G**	p.Arg1160X	2 (33.3)

Таблица 2. Нуклеотидные замены в гене NPHS2 у детей с НС (n=30)

Экзон	Полиморфные маркеры	Нуклеотиды	Гетерозигот/гомозигот	Пациенты, N (%)
1	c.102A>G	p.Gly34Gly	GC**A**>GG**G** гомозиг	20 (66,7)
1	c.59C>T	p.Pro20Ley	C**C**G>C**T**G гомозиг	2 (6,7)
4	c.506T>C	p.Leu169Pro	C**T**C>C**C**C гомозиг	2 (6,7)
4	c.503G>A	p.Arg168His	C**G**T>C**A**T гомозиг	1 (3,3)
5	c.686G>A	p.Arg229Gln p.Arg229Gln	гетерозиг C**G**A>C**A**A гомозиг	1 (3,3) 1 (3,3)
5	c.538G>A	p.Val180Met	**G**TG>**A**TG гомозиг	1 (3,3)
7	c.868G>A	p.Val290Met	**G**TG>**A**TG гомозиг	2 (6,7)
8	c.954C>T	p.Ala318Ala p.Ala318Ala	гетерозиг GC**C**>GC**T** гомозиг	2 (6,7) 12 (40,0)
5'UTR	5'UTR-51G>T		Гетерозиг	3 (10,0)
интронная область				
	IVS3-46C>T		гетерозиг.	1
	IVS3-21C>T		гетерозигот	2

Таблица 3. Нуклеотидные замены в гене NPHS2 у детей с различными видами НС (n=30)

Экзон	Полиморфные маркеры	Нуклеотиды	Дети с минимальными изменениями НС (n=24), абс.ч.	Дети с СРНС (n=5), абс. ч.	Дети с конгенитальным НС (n=1), абс. ч.
1	c.102A>G	p.Gly34Gly	15	4	1
1	c.59C>T	p.Pro20Ley	2	-	-
4	c.506T>C	p.Leu169Pro	2	-	-
4	c.503G>A	p.Arg168His	1	-	-
5	c.686G>A	p.Arg229Gln гетер. p.Arg229Gln гомоз.	- 1	-	1
5	c.538G>A	p.Val180Met	1	-	-
7	c.868G>A	p.Val290Met	2	-	
8	c.954C>T	p.Ala318Ala гетер. p.Ala318Ala гомоз.	2 6	3 2	1
5'UTR	5'UTR-51G>T	Гетероз.	-	2	1
	IVS3-46C>T	Гетероз.	-	1	-
	IVS3-21C>T	Гетероз.	-	2	-

Проведенный нами мутационный анализ гена NPHS1 выявил лишь гетерозиготные мутации. Наши исследования показали, что наибольшее число мутаций наблюдалось у пациента с СРНС и конгенитальным НС. Полученные результаты согласуются с данными по русской популяции в отношении преимущественной идентификации гетерозиготных состояний полиморфных маркеров гена NPHS1 (Приходина и др., 2012). Однако в нашем исследовании чаще идентифицировался полиморфный маркер c.1223G>A (83,3%), а полиморфный маркер c.349G>A, частота которого в выборке детей русской популяции составила 50,9%, в нашей выборке определялась у 16,7% пациентов.

При сопоставлении полученных нами результатов с данными, представленными A.G.Behbahan et al. (2013) имелись некоторые различия. A.G.Behbahan et al. (2013) оценили мутацию гена нефрин у детей-азербайджанцев со стероидрезистентным и стероидчувствительным НС, проживающих на севере Ирана. Авторы наблюдали 6 различных мутаций в 14 случаях (6 со стероидчувствительным и 8 стероидрезистентным НС), включая 8 гомозиготных, 5 гетерозиготных и одну компаунд-гетерозиготность. Отмечается, что мутации, особенно гомозиготные мутации, были более распространены в случаях со стероидрезистентным НС. Согласно нашим результатам, у обследованных нами детей-азербайджанцев с НС выявлялись только гетерозиготные мутации. Иранские исследователи наблюдали мутации в экзонах 4 и 27, которые идентифицировались только у пациентов со стероидрезистетным НС, а мы выявили гетерозиготную мутантную комбинацию в экзоне 11, 17 и 24. Но мы определяли в экзоне 24 c.3230A/G (Asn1077Ser), а иранские исследователи в экзоне 24 - идентифицировали компаунд-гетерозиготу - c.3243_3250 insG (V10846X1095). A.G.Behbahan et al. (2013) также отмечают, что гетерозиготные мутации, особенно в экзоне 16, были чаще у пациентов со стреоидчувтствительным НС, что, по мнению авторов, могло быть ключом к предполагаемому более мягкому фенотипу. Мутации в экзонах 4 (c. 512T>A) и 27 (c.3478C>T) авторы наблюдали только у детей с СРНС, тогда как мы идентифицировали гетерозиготную мутацию в экзоне 27 (c.3478C>T) у 2-х детей с конгенитальным НС.

Отметим, что у японских пациентов с конгенитальным НС общим полиморфизмом был Glu117Lys (349G>A) (Aya et al., 2009), тогда как в наших исследованиях гетерозиготная мутация c.349G>A (E117K) определялась у 1 пациента с конгенитальным НС в комбинации с гетерозиготной мутацией c.1223G>A (p.Arg408Gln). Гетерозиготная мутация c.3315G>A (p.Ser1105Ser) в экзоне 26 определялась у 2-х мальчиков с конгенитальным НС. В литературе указано, что полиморфный маркер c.3315G>A известный полиморфизм без изменения аминокислоты (Liu et al., 2001).

Как мы отметили выше, у 1 пациента с СРНС в экзоне 24 идентифицировалась гетерозиготная мутация c.3230A>G (p.Asn1077Ser) в комбинации с гетерозиготными мутациями 1320 C/T (Pro440Pro) и 2289 C/T (Val763Val) гена NPHS1. В литературе сообщается, что аналогичная мутация определялась в Италии (Guaragna et al., 2017).

Гетерозиготная мутация гена NPHS1 c.1223G>A (p.Arg408Gln) в экзоне 10, выявленная в нашей выборке в 83,3% случаев была идентифицирована также в семьях с НС в Финляндии и Северной Америке (Guaragna et al., 2017).

У обследованных нами детей с конгенитальным НС чаще определялась гетерозиготная мутация p.Arg408Gln, тогда как K.L.N.Thi et al. (2017) у детей с врожденным НС во вьетнамской популяции идентифицировали шесть нуклеотидных изменений в гене NPHS1, 3 из мутаций являются новыми (ведущая замена p.Ser324Ala, p.Lys792 * и p.Arg802Leu).

В отношении наличия мутаций NPHS2 в интронной и незакодированной области, у детей с СРНС наши результаты совпадают с данными В.Ю.Корниенко (2012).

Исследования населения из разных стран, в основном из Европы, Южной Азии и Северной Америки, показали, что распространенность мутаций NPHS2 у детей с СРНС может варьироваться в зависимости от этнической принадлежности (Chanchlani and Parekh, 2016). Мутации, по-видимому, часто встречаются среди американцев и турецких (Ruf et al., 2004; Berdeli et al., 2007) (26% и 24,7% соответственно) пациентов, среди детей Саудовской Аравии (15%) (Alharthi et al., 2017), но не так часто среди греческих (Megremis et al., 2009), китайских (Wang et al., 2017), индийских (Vasudevan et al., 2012), японских (Maruyama et al., 2003; Ogino et al., 2016), пакистанских (Abid et al., 2012) и корейских (Cho et al., 2008) пациентов (9%, 4,3%, 4%, 4%, 3,4% и 0% соответственно). По данным большого многоцентрового исследования, мутации, вызывающие заболевания, были идентифицированы в разных генах; однако мутации в NPHS2 были более частыми (Sadowski et al., 2015). Некоторые из них, с высокой частотой в конкретных географических регионах, считаются основополагающими аллелями для NPHS2: в Европе преобладают p.Arg138Gln и p.Gly140Aspfs * 41;

p.Pro118Leu в Турции; p.Val180Met в Северной Африке; p.Arg138* в Израиле и арабских странах; p.Val260Glu в Омане, Аравия; и p.Met1? и Asn199Lysfs * 14 в Египте (Sadowski et al., 2015). В южноамериканских странах (Мексика, Чили, Бразилия) исследования показали частую встречаемость ассоциации [p.Ala284Val], [p.Arg229Gln] (Guaragna et al., 2017). В нашей выборке часто идентифицировалась p.Gly34Gly.

Проанализировав мутации генов NPHS1 и NPHS2 у мальчика с конгенитальным НС, мы идентифицировали две мутантные комбинации гена NPHS1 и четыре - гена NPHS2. Наши результаты несколько отличаются от данных, полученные у китайских детей. F.U. Rong et al. (Rong et al., 2015), у ребенка с конгенитальным НС не обнаружили мутации гена NPHS2, но была обнаружена новая мутация сайдинга IVS11+1G>A внутри интрона 11 и миссенс-мутация в экзоне 8 (c.928G>A) в гене NPHS1. Две гетерозиготные мутации IVS11+1G>A и c.928G>A в гене NPHS1 были идентифицированы у ребенка, проживающего в центральном регионе Китая. По мнению исследователей, мутация сайта сращивания IVS11+1G>A является новым генетическим дефектом конгенитального НС, что свидетельствует о необходимости поиска мутаций в гене NPHS1 у детей с этой патологией.

Существует эволюционная роль генетического риска и развития нефротического синдрома у детей. Открытие генов NPHS1 и NPHS2, ведущих к врожденному нефротическому синдрому, стало первым доказательством генетической причины стероидорезистентного заболевания. С тех пор 45 генов были связаны с моногенными формами нефротического синдрома и выделяют аномалии в структуре и функции подоцитов, приводя к заболеванию (Bierzynska et al., 2016). Нынешние известные гены, связанные с НС, составляют лишь 20-30% наследственных и 10-20% спорадических случаев. С развитием генетических анализов у детей с НС выявлено все большее число полиморфизмов. Однако важно отметить, что некоторые варианты имеют неизвестное значение. Трудно определить, являются ли эти варианты распространенными и / или патогенными по этническим или предковым группам, пока генетические базы данных не включают более полную информацию по многим этническим группам. Понимание эпидемиологических различий в заболевании почек по этническому признаку может предполагать возможный генетический риск.

Как показывают данные литературы и наше исследование, у детей с НС заболеваемость и ответные реакции на лечение различаются по этническому признаку. Вероятно, генетические и экологические факторы риска играют существенную роль в объяснении этих этнических различий и нуждаются в дальнейшем изучении.

Насколько нам известно, это первое исследование идентифицирования мутаций в гене NPHS1 и NPHS2 у азербайджанских пациентов с НС. Наши результаты расширили известный спектр мутаций у пациентов с НС и внесут свой вклад в лучшее понимание НС в разных этнических группах.

ЛИТЕРАТУРА

Ağayev M.M. (2007) Nefrologiya. Bakı: Əbilov, Zeyn. və oğulları, 352 s.

Əhmədova L.Z. (2012) Nefrologiya: tədris vəsaiti. Bakı: 253 s.

Корниенко В.Ю., Алябьева Н.М., Вашурина Т.В., Цыгин А.Н., Асанов А.Ю., Пинелис В.Г. (2012) Изучение гетерогенности гена NPHS2 у детей со стероидрезистентным нефротическим синдромом. *Молодой ученый*, **2(1):** 133-137.

Приходина Л.С., Рыжкова О.П., Поляков А.В. (2012) Полиморфные маркеры гена нефрина (NPHS1) при спорадическом стероид-резистентном нефротическом синдроме у детей. *Нефрология и диализ*, **14(1):** 56-62.

Abid A., Khaliq S., Shahid S. et al. (2012) A spectrum of novel NPHS1 and NPHS2 gene mutations in pediatric nephrotic syndrome patients from Pakistan. *Gene*, **502(2):** 133-137.

Alharthi A.A., Gaber A., Abu Khatwah M.W., Almalki A.M., Muzallef A.A., Hassan M.M. et al. (2017) Mutational analysis of NPHS2 and WT1 genes in Saudi children with nephrotic syndrome. *Current Pediatric Research*, **21 (1):** 11-18

Aya K., Shimizu J., Ohtomo Y. et al. (2009) NPHS1 gene mutation in Japanese patients with congenital nephrotic syndrome. *Nephrol. Dial. Transplant.*, **24:** 2411–2414.

Banh T.H.M., Hussain-Shamsy N., Patel V., Vasilevska-Ristovska J., Borges K., Sibbald C. et al. (2016) Ethnic differences in incidence and outcomes of childhood nephrotic syndrome. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, **11:** 1760–1768.

Behbahan A.G., Poorshiri B., Mortazavi F., Khaniani M.S., Derakhshan S.M. (2013) NPHS1 gene mutations in children with nephrotic syndrome in Northwest Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **16:** 882-886.

Berdeli A., Mir S., Yavascan O., Serdaroglu E., Bak M., Aksu N. et al. (2007) NPHS2 (podicin) mutations in Turkish children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*., **22(12):**

2031–2040.

Bierzynska A., Soderquest K., Koziell A. (2014) Genes and podocytes – new insights into mechanisms of podocytopathy. *Front Endocrinol.*, **5:** 226.

Chanchlani R., Parekh R.S. (2016) Ethnic differences in childhood nephrotic syndrome. *Front. Pediatr.*, **4(article 30):** 1-6.

Cho H.Y., Lee J.H., Choi H.J. et al. (2008) WT1 and NPHS2 mutations in Korean children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, **23(1):** 63-70.

Guaragna M.S., Lutaif A.C.G.B., Maciel-Guerra A.T., Belangero V.M.S., Guerra-Júnior G., De Mello M.P. (2017) NPHS2 Mutations: A closer look to Latin American Countries. *Biomed. Res. Int.*, **7518789:** 1-6.

Liu L., Cotta Doné S., Khoshnoodi J., Bertorello A. et al. (2001) Defective nephritis trafficking caused by missense mutations in the NPHS1 gene: insight into the mechanisms of congenital nephrotic syndrome. *Hum. Mol. Genet.*, **23:** 2637-2644.

Maruyama K., Iijima K., Ikeda M., Kitamura A., Tsukaguchi H., Yoshiya K. et al. (2003) NPHS2 mutations in sporadic steroid-resistant nephrotic syndrome in Japanese children. *Pediatr. Nephrol.*, **18(5):** 412–416.

Megremis S., Mitsioni A., Mitsioni A.G. et al. (2009) Nucleotide variations in the NPHS2 gene in Greek children with steroidresistant nephrotic syndrome. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, **13(2):** 249-256.

Nourbakhsh N., Mak R.H. (2017) Steroid-resistant nephrotic syndrome: past and current perspectives. *Dovepress*, **8:** 29-37.

Ogino D., Hashimoto T., Hattori M. et al. (2016) Analysis of the genes responsible for steroid-resistant nephrotic syndrome and/or focal segmental glomerulosclerosis in Japanese patients by whole-exome sequencing analysis. *Journal of Human Genetics*, **61(2):** 137-141.

Rong F.U., Qing-yan W.U., Ji-xiang X.U., Meng-fan GOU et al. (2015) Mutation of NPHS1 gene in a Chinese child with congenital nephrotic syndrome. *Medical Journal of Chinese People's Liberation Army*, **40(7):** 578-581.

Ruf R.G., Lichtenberger A., Karle S.M., Haas J.P., Anacleto F.E., Schultheiss M. et al. (2004) Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.*, **15(3):** 722–732.

Sadowski C.E., Lovric S., Ashraf S. et al. (2015) A single-gene cause in 29.5% of cases of steroid-resistant nephrotic syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*. **26(6):** 1279-1289.

Thi K.L.N., Van Dem P., Thu H.N., Trung K.P., Thi Q.H.N., Huy H.N. (2017). Three novel mutations in the NPHS1 gene in Vietnamese patients with congenital nephrotic syndrome. *Case Rep Genet.*, **2017:** 2357282.

Vasudevan A., Siji A., Raghavendra A., Sridhar T.S., Phadke K.D. (2012) NPHS2 mutations in Indian children with sporadic early steroid resistant nephrotic syndrome. *Indian Pediatrics*, **49(3):** 231–233.

Wang F., Zhang Y., Mao J., Yu Z., Yi Z., Yu L. et al. (2017) Spectrum of mutations in Chinese children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.*, **32(7):**1181-1192.

Azərbaycan və digər populyasiyaların nefrotik sindromlu uşaqlarında NPHS1 və NPHS2-nin heterogenliyinin müqayisəli analizi

R.O. Bəylərov

Azərbaycan Tibb Universiteti

Məqsəd – xroniki qlomerulonefrit səbəbilə yaranan nefrotik sindromun müxtəlif variantları ilə xəstə olan Azərbaycan milliyyətindən olan uşaqlarda NPHS1 və NPHS2 genlərinin polimorfizm tezliyinin təyini və alınan nəticələrin digər populyasiyaların nəticələri ilə müqayisəsi. XQN səbəbilə yaranan NS-li 36 uşaq müayinə olunub. Orta yaş həddi 7,26±2,88 yaş idi. NPHS1 və NPHS2 genlərinin polimorfizmi refrakter mutasion sistemin amplifikasiyası – PSR vasitəsilə qiymətləndirilmişdir. Sıralama üçün BigDye® Terminator V.3.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystems, ABŞ) istifadə olunmuşdur. NPHS1 и NPHS2 genlərinin NM_004646.1 nukleotid zənciri ilə oxşarlıqlarını sonradan təyin etməklə ardıcıllıqları müqayisə etmək üçün Blast Ce NCB1 proqramından istifadə edilmişdir. Müyinə olunan uşaqlarda NPHS1 geninin GA genotipi üstünlük təşkil etmişdir. NPHS2 geninin AG və CT genotipləri demək olar ki, eyni tezlikdə rast gəlindi. Steroidərezistent NS zamanı nefrin geninin CT genotipi, anadangəlmə və minimal dəyişiklikli NS zamanı isə GA genotipi üstnlük təşkil etmişdir. Podosin geninin AG və CT genotipləri uyğun olaraq 40,0% və 38,0%

tezlikdə rast gəlinmişdir. Genlərin aşkar edilmiş mutasiyalarının digər populyasiyaların nəticələri ilə müqayisəli analizi aparılmışdır. Bu, NS-li azərbaycanlı xəstə uşaqlarda NPHS1 və NPHS2 genində mutasiyaların identifikasiyasının aparıldığı ilk tədqiqatdır. Alınan nəticələr NS-li pasiyentlərdə məlum mutasiya spektrini genişləndirmiş və müxtəlif etnik qruplarda NS-ni yaxşı başa düşmək üçün öz töhvəsini verəcək.

Açar sözlər: *Uşaqlar, xroniki qlomerulonefrit, nefrotik sindrom, nefrin, podosin, genotip, polimorfizm, mutasiya.*

Comparative analysis of heterogeneity of NPHS1 and NPHS2 in children with nephrotic syndrome of Azerbaijan and other populations

R.O. Baylarov

Azerbaijan Medical University

The aim is to determine the frequency of polymorphism of the NPHS1 and NPHS2 genes in children of Azerbaijani nationality with different variants of the nephrotic syndrome caused by chronic glomerulonephritis and comparing the results with the data of other populations. We examined 36 children with NS caused by CGN. The mean age was 7.26 ± 2.88 years. Polymorphism of the NPHS1 and NPHS2 genes is evaluated by amplification of the refractory mutation system-PCR. For sequencing BigDye® Terminator V.3.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystems, USA) was used. To compare the sequences with the subsequent determination of their similarity to the NM_004646.1 nucleotide chain of the NPHS1 and NPHS2 genes, the Blast Ce NCB1 program was used. The genotype of the GA gene of the NPHS1 gene dominated in the children examined. The genotypes AG and CT of the NPHS2 gene were almost the same. In the congenital and NS with minimal changes, the GA genotype prevailed, and in the case of steroid-resistant HC, the genotype of the CT of the nephrin gene. The genotypes AG and CT of the podocin gene were found at a frequency of 40.0% and 38.0%, respectively. A comparative analysis of the revealed mutations of genes with the results in other populations was carried out. This is the first study of the identification of mutations in the gene NPHS1 and NPHS2 in Azerbaijani patients with NS. The results broadened the known spectrum of mutations in patients with NS and contribute to a better understanding of NS in different ethnic groups.

Keywords: *Children, chronic glomerulonephritis, nephrotic syndrome, nephrin, podocin, genotype, polymorphism, mutation.*